Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau
Direktor: Professor Dr. Carl Prausnitz

Ueber die Beeinflussung von Streptokokken, Pneumokokken und Typhusbazillen durch Chemikalien in der Blutkultur nach Wright

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung
der Würde eines Doktors der Medizin

bei der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau

vorgelegt von

Hans Kuhn
approb. Arzt

Breslau 1932
Druck von Anton Schreiber, Breslau

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Breslau

I. Referent: Fräulein Privatdozent Dr. Gertrud Meißner
II. Referent: Professor Dr. Carl Prausnitz

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Einleitung.

Das Verhalten eines Bakterienstammes im Blut ist abhängig von zwei Hauptfaktoren: Der eine davon ist die Virulenz des betreffenden Stammes selbst, der zweite jedoch ist die mehr oder minder hemmende Kraft des Organismus, die in ausgesprochenem Maße in den Abwehrkräften des Blutes liegt. Die Beobachtung des Bakterienwachstums im Blut wird niemals den einen der beiden Faktoren allein erfassen können. Überlegt man sich, wie groß schon der Einfluß relativ einfach zusammengesetzter Nährböden auf das Wachstum von Bakterien ist, so muß man unmittelbar zu der Überzeugung kommen, daß die Beobachtung des Wachstums von Bakterien im Blut in weitestem Maße von der Ausgestaltung der Wechselbeziehungen der beiden aufeinander wirkenden Agentien, Blut und Bakterien, abhängig ist. In der Tat kann auch jede derartige Versuchsreihe immer nur die Resultate des gegenseitigen Aufeinanderwirkens von Blut und Bakterien bestimmen, wobei natürlich auch die Begriffe der Virulenz und der hemmenden Kraft des Blutes sich bald als zusammengesetzt aus einer Vielzahl von Komponenten zeigen. Über aufschlußreiche Beobachtungen dieser Art berichteten schon Schottmüller und Barfurth, die Streptokokken nach mehrstündigem Kontakt mit defibriniertem Blut im Brutschrank auf künstliche Nährböden aussäten und dann die angegangenen Kolonien zählten. In ähnlicher Weise verfuhr Todd, während Ruge und Philipp einige Stunden lang das Wachstum von Streptokokken im Patientenblut unter dem Mikroskop beobachteten. Beide Methoden ließen also Bakterien und Blut nur relativ kurze Zeit aufeinander wirken, wobei trotzdem schon recht eindrucksvolle Ergebnisse erzielt werden konnten.

Gegenüber diesen Versuchsanordnungen beschritt Wright mit zwei in Zusammenarbeit mit seinen Schülern ausgearbeiteten Verfahren zur Prüfung feinerer Unterschiede in der bakteriziden Kraft des Blutes ganz neue Wege. Eine

der Methoden von Wright ermöglicht es, die Bakterien im unveränderten Gesamtblut selbst zu züchten und damit eine genügend lange ausgedehnte Wechselwirkung von Blut und Bakterien aufeinander zu erzielen und durch zahlenmäßige Erfassung des Wachstums der Bakterien die Hemmung desselben durch die Einwirkung des Blutes exakt quantitativ zu bestimmen.

Bei der einen Methode wird defibriniertes Blut in eine flache Kammer bestehend aus zwei durch vaselinierte Papierstreifen voneinander getrennten sterilen Objektträgern gebracht, nachdem vorher dem Blut eine Aufschwemmung der zur Untersuchung verwendeten Bakterien beigemischt wurde. Als Kontrolle dient die gleiche Aussaat der Bakterienaufschwemmung in Agar. Nach Bebrütung bei 37° sind die Bakterien in der dünnen Blutschicht, die durch ihre Unbeweglichkeit fast wie ein fester Nährboden wirkt, zu Kolonien ausgewachsen; diese können meist schon makroskopisch gut ausgezählt werden, oder sie werden mit schwachen Vergrößerungen angesehen.

Nach dieser Methode lassen sich Staphylo- und Streptokokken gut in ihren Wachstumsverhältnissen beobachten.

Handelt es sich darum, auch kleine, nur mikroskopisch sichtbare Bakterienkolonien und ferner diffuses Wachstum zu erfassen, so erscheint die andere Methode, nach der die Bakterienaufschwemmung mit frischem, nicht defibriniertem Blut vermischt und dann in kapillare Glasröhren gebracht wird, geeigneter. Nach Bebrütung bei 37° kann man aus den Röhrchen das fadenförmig geronnene Blut herausblasen und die darin gewachsenen Kolonien nach Färbung bequem mikroskopisch untersuchen.

Wright hat mit seinen Methoden die bakterizide Kraft des Blutes gegenüber Staphylo- und Streptokokken bei akuten und chronischen Infektionskrankheiten untersucht und deren Änderung durch spezifische Vaccinbehandlung gemessen. Er arbeitete mit Meerschweinchen-, Kaninchen- und Menschenblut und stellte dabei auch schon bei gesunden Menschen individuelle Differenzen in der bakteriziden Kraft des Blutes fest. Wright fand im Verlaufe seiner Untersuchungen die von ihm als „epiphylaktische" Erhöhung der Abwehrstoffe des Körpers bezeichnete „unspezifische Resistenzerhöhung" Pfeiffers wieder, und die Untersuchun-

gen seiner Schüler stellten fest, daß durch eine ganze Reihe äußerer Reize (Bestrahlungen mit verschiedenen Lichtarten) die bakteriziden Kräfte ebenfalls erheblich gesteigert werden konnten.

In Deutschland prüften C. Prausnitz und G. Meißner als erste die Versuche Wrights nach. Seine Angaben ließen sich hierbei in vollem Umfange bestätigen und seine Beobachtungen wurden dahin erweitert, daß auch unspezifische Reizbehandlung (Yatren, Aolan) die bakteriziden Kräfte des Organismus erhöht. Auch für Milzbrandbazillen wurde die abtötende Kraft des Blutes durch Versuche von Prausnitz und I. Meißner konstatiert und die Möglichkeit ihrer Steigerung nachgewiesen. Pfalz konnte bei Untersuchungen über die Wirkung therapeutischer Maßnahmen bei gynäkologischen Erkrankungen für die Anwendung von Novoprotin, Yatrenkasein sowie Sufrogel die gleichen Ergebnisse feststellen und ebenso eine Erhöhung der unspezifischen Abwehrkräfte durch spezifische Vaccinbehandlung konstatieren. Geller beobachtete bei Anwendung der Wright'schen Methode, daß bei gesunden Männern die Bakterizidie des Blutes konstant ist, bei Frauen dagegen im Zusammenhang mit dem mensuellen Zyklus gewissen Schwankungen unterliegt. Scholtz stellte mit Hilfe der Wright'schen Methode ein Ansteigen des bakteriziden Index im Blut durch Injektionen von Magnesiumsalzen fest. Die Versuche Wrights waren in der Hauptsache mit Staphylokokken, gelegentlich auch mit Streptokokken angestellt worden. Wright hatte aber auch andere Bakterienarten, z. B. Tuberkelbazillen, untersucht und die Möglichkeit ihrer Züchtung nach seinen Methoden gefunden.

Tuberkelbazillen wachsen bei der Züchtung unter Anwendung der Kapillarmethode zu mikroskopisch gut sichtbaren Kolonien vorwiegend an den Enden des Kapillarfadens aus, wobei Humanus- und Bovinusstämme zu den Versuchen herangezogen werden können. Bannerman hat auch für Vogeltuberkelbazillen gutes Wachstum in Kolonien, hierbei aber durch den ganzen Faden hindurch, festgestellt. G. Meißner konnte bei ihren Nachprüfungen die Resultate der Wright'schen Versuche mit der Züchtung von Tuberkelbazillen im Kapillarfaden bestätigen und ihrerseits die Methoden Wrights weiter ausbauen und zur exakten

quantitativen Prüfung des Wachstums der Bakterien geeigneter gestalten. Hierbei ließen sich weitgehende Differenzen im Wachstum der Tuberkelbazillen im Blut gesunder und tuberkulöser Meerschweinchen und Kaninchen feststellen. Sonak benutzte diese quantitative Methode mit Erfolg zum Studium der Blutbakterizidie gegenüber Tuberkelbazillen bei Kindern im Verlaufe von Infektionskrankheiten.

Zu ausgedehnten Versuchsreihen wurde weiterhin im Verfolg dieser Arbeiten von Hesse und Meißner die Wright'sche Kapillarmethode herangezogen, um die Beeinflussung der Tuberkelbazillen im Blut durch chemotherapeutisch wirkende Substanzen zu prüfen.

Die Bedeutung des Milieus für die Wirkung von Desinfektionsmitteln ist bekannt. Man weiß, daß es eine große Zahl von Stoffen gibt, die eine prompt abtötende Wirkung auf Bakterien in recht niedriger Konzentration ausüben, solange man die Untersuchungen in wässrigen Lösungen ausführt. Dieses Bild ändert sich häufig mit einem Schlage, wenn man das Wasser durch Serum oder gar Blut ersetzt, und die meisten Substanzen versagen dann vollständig. Eines der bekanntesten Beispiele hierfür dürfte das Sublimat sein.

Die systematische Prüfung chemotherapeutischer Einwirkung auf Krankheitserreger durch eine größere Zahl verschiedener Substanzen ist eine mühselige und langwierige Arbeit, da bisher außer den kostspieligen und viel Substanzmaterial verbrauchenden Tierversuchen keinerlei geeignete Methoden zur Untersuchung der Wirkung in einem körperähnlichen Milieu zur Verfügung standen. Die Wright'sche Kapillarmethode schien nicht ungeeignet, hierin Wandel zu schaffen.

Als erster hat Fry den Einfluß eines Goldpräparates (Sanocrysin) auf Tuberkelbazillen in der Blutkultur geprüft, dabei aber völlig negative Ergebnisse erzielt.

Diese Arbeitsweise wurde nun von Hesse, Meißner und Quast aufgenommen und dann von Meißner und Hesse weiter ausgebaut; sie wandten die Wright'sche Kapillarmethode als Auswahlmethode zur Prüfung möglichst vieler Substanzen in bezug auf ihre bakterizide Wirkung gegenüber Tuberkelbazillen im Blut an und untersuchten so etwa 4000 Substanzen. Dabei stellte es sich heraus, daß nur basische Stoffe mit einem heterozyklischen, stickstoffhal-

tigen Ring das Wachstum der Tuberkelbazillen wesentlich beeinflussen. Es schälten sich schließlich aus der großen Zahl der Substanzen einige wenige Gruppen heraus, die im Wright'schen Kapillarversuch das Wachstum der Tuberkelbazillen hemmten. Bei der Übertragung der Versuche auf das Tierexperiment konnten einige der nach der Wright-schen Methode als wirksam festgestellten Körper wirklich die Ausbreitung der tuberkulösen Infektion beim Meerschweinchen teilweise oder ganz verhindern und einige am superinfizierten Kaninchen das Fortschreiten der Lungentuberkulose hemmen. Es sieht also so aus, als ob im Vergleich mit anderen Prüfungsmethoden der chemo-therapeutischen Forschung die Wright'sche Kapillarmethode dem Körpermilieu so weit nahekommt, daß sie als zweckmäßiges Auswahlverfahren zur Auffindung von wirksamen Substanzen zur Beeinflussung des Bakterienwachstums im Organismus anzusprechen ist.

Diese Ergebnisse der Arbeiten von Hesse und Meißner gaben Anlaß, auch andere Bakterienstämme und deren Verhalten im Blut sowie ihr Wachstum unter der Einwirkung verschiedener Substanzen im Blut zu prüfen.

Berndt untersuchte Streptokokken, Pneumokokken, Diphtheriebazillen, Aktinomyzes, Typhus- und Paratyphusbazillen, Influenzabazillen und Gonokokken auf ihr Wachstum im Meerschweinchenblut unter Anwendung der Kapillarmethode nach Wright. Er konnte zeigen, daß alle obengenannten Bakterienarten außer den Gonokokken hierbei Kolonien bilden. Das Wachstum der verschiedenen Arten erfolgte in zwei Haupttypen: Fakultative Anaerobier, wie Strepto- und Pneumokokken und Diphtheriebazillen bildeten gut erkennbare, an den Fadenenden manchmal etwas größere Kolonien durch den ganzen Faden hindurch. Typhus-, Paratyphus- und Influenzabazillen, die mehr Sauerstoff für ihr Wachstum benötigen, wuchsen vorzugsweise an den Fadenenden zu gut isolierten größeren Kolonien aus, da ihnen dort eine größere Sauerstoffmenge zur Verfügung stand, während sich in der Fadenmitte nur kleine oder gar keine Kolonien fanden. Zwischen beiden Typen standen die Aktinomyzesstämme, von denen einer nur an den Enden Kolonien bildete, während der andere durch den ganzen Faden hindurch wuchs. Schwierigkeiten bereitete die Züch-

tung der Influenzabazillen, bei denen erst dann ein spärliches Wachstum in kleinen Kolonien und diffus erzielt wurde, nachdem anscheinend hemmende Substanzen des frischen Blutes durch Zusatz von adsorbierenden Substanzen, wie z. B. Aufschwemmungen von Tierkohle usw. eliminiert wurden.

Die Untersuchungen von Berndt ermöglichten es nun, die Einwirkung verschiedener Substanzen auch auf andere Bakterienstämme als Tuberkelbazillen im Blut zu prüfen. Ich habe daher auf Veranlassung von Frl. Privatdozent Dr. G. Meißner Substanzen aus den chemischen Gruppen, die in den Versuchen von Hesse und Meißner sich als wirksam gegenüber Tuberkelbazillen gezeigt hatten, im Wrightschen Kapillarversuch mit Streptokokken, Pneumokokken und Typhusbazillen geprüft. Es sollte festgestellt werden, ob es sich bei den von Hesse und Meißner gefundenen Stoffen um spezifisch auf Tuberkelbazillen wirkende Körper handelt oder ob ihre bakterizide Wirkung mehr allgemeiner Natur war, ferner wie weit die Wirkung im Wright'schen Kapillarversuch Aussicht auf erfolgreiche Übertragung der Versuche auf das Tier bietet.

Eigene Versuche.

In die Versuche wurden fünf verschiedene Streptokokken-, vier Pneumokokken- und drei Typhusstämme genommen. Von den Streptokokken stammten zwei aus der Sammlung des Institutes, nämlich der Stamm 1037 und der mäusepathogene Stamm Kauffmann. Drei Stämme waren frisch herausgezüchtet und erhielten die Bezeichnungen I, V und VI. Von den Pneumokokkenstämmen waren ebenfalls zwei aus der Institutssammlung, und zwar ein Stamm Typ I und einer Typ IV; zwei frische Stämme erhielten der Einfachheit halber die Nummern 5 und 6, ihre Typen wurden nicht geprüft. Die drei Typhusstämme 939, II und VI sind alte Sammlungsstämme. Die zu den Versuchen herangezogenen 12 Substanzen gehörten den Gruppen der Pyridine, Chinoline, Akridine, Azine und Alkaloide an. Außerdem wurden noch die aus der Humanmedizin schon bekannten und dort vielfach angewandten Substanzen Optochin und Eucupin (Alkaloidgruppe) und Trypaflavin und Rivanol (Akridinkörper) in die Versuche einbezogen. Dem Unter-

suchenden war die Natur der Substanzen während der Versuche nicht bekannt, sie liefen unter den Nummern, die aus den erwähnten Versuchen von Meißner und Hesse stammten. Es handelte sich um folgende Körper:

Substanz:	Gruppe:
p - Nitrilbenzolhydrazolutidin o - p - Dinitrobenzolhydrazolutidin	Pyridine
4 - Piperidyl - 3 - amino - lutidin - hydrochlorid 6 - Isoamyloxy - 4 - isoamylaminochinolin 2 - (hydrazobenzol) -4- (p - dimethylamino-styryl)- 7 - (p - dimethylaminobenzyliden) - aminochinolin (Styrylchinolinkörper!)	Chinoline
3,6 - Diaminoakridin	Akridin
Safranin Tanninheliotrop Indaminblau	Azine
α - Isochinin Aethylapochinin Harmin	Alkaloide

Hierzu kamen, wie schon erwähnt:

Name:	Substanz:	Gruppe:
Optochin Eucupin	Aethylhydrocuprein Isoamylhydrocuprein	Alkaloide
Trypaflavin Rivanol	3,6 - Diamino -4- methylacridinchlorid 2 - Aethyl - 6,9 - diaminoacridin	Akridine

(Die in der Gruppe „Alkaloide“ aufgeführten Körper α - Isochinin und Aethylapochinin sind chemisch den Chinolinen zuzurechnen.)

Versuchstechnik.

Die Versuchstechnik gestaltete sich im einzelnen folgendermaßen: Das Meerschweinchenblut wird mit paraffinierter Spritze durch Herzpunktion steril (mit Paraff. liquid. von 130—140° durch dreimaliges, langsames Aufziehen und wieder Ausspritzen sterilisiert) entnommen und in paraffinierten eisgekühlten Glasröhrchen möglichst lange flüssig gehalten. Mittels paraffinierter Pipetten, die durch Wrightsche Eichkapillaren mit Quecksilber geeicht sind, werden

jeweils 50 cbmm Blut, 5 cbmm einer durch entsprechende Vorversuche als zweckmäßig festgestellten Aufschwemmung der zu untersuchenden Bakterien, und 5 cbmm der zu untersuchenden Substanz in entsprechend verdünnter Lösung auf sterilen, paraffinierten, eisgekühlten Objektträgern gemischt, was am zweckmäßigsten durch wiederholtes Aufsaugen und Ausblasen mit einer Glaskapillare geschieht. Dann wird das Gemisch in je zwei feine Glaskapillaren von zirka 1 — 1,5 Millimeter lichter Weite aufgezogen, die sofort zugeschmolzen werden. Zur Herstellung der Aufschwemmungen werden 24 Stunden alte Kulturen benutzt. Als zweckmäßig hat sich für Streptokokken eine Aufschwemmung von etwa $^1/_2$—1 Öse (Blutagarkultur) in 10 ccm Kochsalzlösung, für Pneumokokken (Kochblutagarkultur) und Typhusbazillen (Agarkultur) etwa 1—2 Ösen in 10 ccm Kochsalzlösung — die Typhusbazillenaufschwemmung dann mit physiologischer Kochsalzlösung auf $^1/_{100}$ verdünnt — erwiesen. Diese Konzentrationen wurden während der Versuchsdauer durch Trübigkeits-Vergleich mit einer Standardtrübung hergestellt. Die zugesetzten Substanzen wurden in wässerigen Lösungen von 1:1000, 1:5000 und 1:10 000 verwandt, die jeweils frisch hergestellt und durch einstündiges Kochen im Wasserbad sterilisiert wurden. Es ergaben sich so Endverdünnungen von 1:12 000, 1:60 000 und 1:120 000 im Blutfaden. Mit jedem Blut und jeder Bakterienaufschwemmung wurden je vier Kontrollfäden ohne Zusatz der chemischen Substanzen angelegt, um das normale Wachstum der Bakterien beobachten zu können. Die zugeschmolzenen Kapillaren wurden bei 37° bebrütet, wobei in Anlehnung an die Versuche von Berndt für Streptokokken die Zeit von vier Tagen, für Pneumokokken und Typhusbazillen die von 7 Tagen als zweckmäßigste gewählt wurde. Nach der Bebrütung wurden die Blutfäden aus den Kapillaren in Petrischalen mit 1 prozentiger Saponinlösung ausgeblasen, um das Hämoglobin zu entfernen. Das an den Fadenenden sich durch Oxydation oft bildende Methämoglobin löst sich ebenfalls rasch, wenn man zu 1 Liter der Saponinlösung 20 ccm konzentrierte Sodalösung hinzufügt. Nach 2—3 Stunden werden die Fäden auf Objektträger aufgezogen, nachdem man zur Vermeidung von Niederschlägen vorher die Saponinsodalösung mit Wasser reichlich verdünnt hat, mehrere Stunden lang im Brutraum bei 37° getrocknet

und schließlich gefärbt. Zur Färbung wurde für Streptokokken und Typhusbazillen Löfflers Methylenblau 1 : 40 (mit dest. Wasser verdünnt) in einer Einwirkungszeit von 1—2 Sekunden verwandt und für Pneumokokken eine 0,25 prozentige Karbolthioninlösung 1 : 20 (mit Leitungswasser verdünnt) etwa 50° warm bei einer Färbezeit von 2 Minuten.

Es sei an dieser Stelle auf einige Schwierigkeiten der Technik hingewiesen, die man kennen muß, um einwandfreie Resultate zu erzielen. Um individuelle Einflüsse auf das Wachstum durch das jeweils verwendete Blut auszuschalten, resp. sich ergebende Unterschiede ausgleichend beurteilen zu können, wurden jeweils 2 verschiedene Blute verwandt. Substanzen, die nicht wirkten, wurden aus den weiteren Versuchen ausgeschaltet, und nur diejenigen wurden weiter geprüft, die einen hemmenden Einfluß gezeigt hatten. Mit diesen wurden die ersten Versuche wiederholt und gleichzeitig andere Stämme der gleichen Art mit herangezogen, so daß schließlich wirksame Substanzen mit mehreren Stämmen, und jeder Stamm in doppelter Versuchsreihe, geprüft wurden. Im übrigen wurden bei den Kontrollversuchen die Verdünnungen der Substanzen, die sich als ganz wirkungslos herausgestellt hatten, fortgelassen und nur die stärkeren Konzentrationen wiederholt.

Der Versuch mit einem Blut, einer Bakterienaufschwemmung und 12 Substanzen in je 3 Konzentrationen dauert ungefähr 1—1½ Stunden. Manchmal ist es schwierig, das Blut so lange flüssig zu halten. Es besteht dann die Gefahr, daß man kein Gesamtblut sondern nur gefärbtes Serum in die Kapillare bekommt, so daß sich dann natürlich kein Blutfaden bildet. Die Gerinnung des Blutes erfolgt nach den vorliegenden Beobachtungen umso eher, je unruhiger das Tier bei der Herzpunktion ist, und je weniger glatt die Entnahme vor sich geht. Weiterhin scheint es wichtig zu sein, daß man nicht in einem zu warmen Raume arbeitet, denn schon die auf dem Blut im eisgekühlten Röhrchen an der Oberfläche ruhende Luftsäule kann eine zuerst oberflächliche und dann natürlich schnell durchgreifende Gerinnung verursachen. Für neues Blut müssen natürlich auch wieder eigene Kontrollfäden angelegt werden. Gelegentlich kommt es übrigens trotz aller Vorsicht und Genauigkeit im Arbeiten vor, daß man in der einen oder anderen Kapillare keinen geronnenen Faden findet. Die Ursache

hierfür ist nachträglich natürlich kaum jemals festzustellen; möglicherweise ist an eine jeweilige bakterielle Verunreinigung durch einen Luftkeim zu denken.

Bevor man die 50 cbmm Blut jeweils mit den 5 cbmm Bakterienaufschwemmung und Substanzlösung vermischt, tut man zweckmäßigerweise von der Bakterienaufschwemmung und der Substanzlösung sämtliche Tröpfchen zu je 5 cbmm auf sterile Objektträger, um dann die Blutstropfen hintereinander zu setzen, vermischen und in die Kapillaren aufziehen zu können. Die Objektträger mit den darauf befindlichen Tröpfchen werden bis zur Mischung mit dem Blut in eisgekühlten feuchten Kammern gehalten.

Die Einsaat der Bakterien darf nicht zu gering und nicht zu stark sein. Ist sie zu gering, so kann es, vor allem bei Pneumokokken vorkommen, daß eine anscheinend bestehende untere Schwelle unterschritten wird, so daß dann überhaupt nichts im Faden wächst. Ist die Einsaat dagegen zu stark, so behindern sich die einzelnen Kolonien gegenseitig im Wachstum, und man erhält nur sehr kleine, schlecht ausgebildete Kolonien.

In Übereinstimmung mit den Angaben von Berndt wurde festgestellt, daß Strepto- und Pneumokokken schöne, große, isolierte Kolonien durch den ganzen Faden bildeten, wobei allerdings die Pneumokokkenkolonien an den Fadenenden unverhältnismäßig zahlreicher und größer waren als in der Fadenmitte. Die Typhusbazillen neigen weniger zur Kolonienbildung; ihre Kolonien waren oft sehr groß und locker, so daß man bei der Ansicht mit starker Vergrößerung und Ölimmersion das Gefühl eines diffusen Wachstums in einem begrenzten Bezirk hatte, während man dann bei schwächerer Vergrößerung eine sehr große dünne Kolonie als mehr oder minder dunklen Schatten mit deutlicher Begrenzung sah. Manchmal gingen aber solch große lockere Kolonien in diffuses Wachstum durch das ganze Fadenende über.

Versuchsergebnisse.

Die Versuche wurden nach folgendem Maßstabe beurteilt: Durch Vergleich mit den Kontrollfäden wird die normale Größe der Kolonien im betreffenden Versuch festgestellt; diese wird mit ++ bezeichnet. Kleinere Kolonien bekommen das Zeichen +. Kolonien, die erst mit stärkerer Vergrößerung unter Anwendung der Ölimmersion gefunden

werden, werden mit (+) bezeichnet. Wurden im ganzen Faden nur wenige Kolonien, diese aber in gut ausgebildeter Form und Größe gefunden, so wird deren Anzahl in einer Klammer beigefügt, z. B. ++ (2). Diffuses Wachstum, das bei den Typhusbazillen vorkam und natürlich nur mit der Ölimmersion gefunden werden konnte, wird je nach der Ausdehnung mit d++ und d+ bezeichnet. Hat man bei genauer Durchmusterung des Fadens festgestellt, daß keine Bakterien darin gewachsen sind, so erhält er das Zeichen ∅. Für die endgültige Beurteilung des Resultates ist natürlich der Befund in beiden Fäden maßgebend. Insbesondere kann eine sterilisierende Wirksamkeit der untersuchten Substanz erst dann angenommen werden, wenn in beiden Fäden übereinstimmend kein Bakterienwachstum gefunden wurde. Von einer Auszählung der gewachsenen Kolonien wurde Abstand genommen, da die übersichtsmäßige Konstatierung des Wachstums resp. der Hemmung für die Beurteilung der Wirkung der entsprechenden Substanz vollkommen ausreichend erschien.

Von einer hemmenden Wirkung einer Substanz haben wir nur dann gesprochen, wenn die Hemmung des Bakterienwachstums gleichmäßig von der schwächeren Konzentration der zugesetzten Substanz zur stärkeren ansteigt. Es wäre zwar denkbar, daß z. B. durch den Zusatz einer chemischen Substanz in einer für die direkte Hemmung unterschwelligen Dosis durch einen hierdurch hervorgerufenen Reiz (Arndt-Schulz) eine Vermehrung der Hemmung gegenüber der völlig unbeeinflußten Kultur erzielt würde. Möglich wäre ein solches Verhalten bei Versuchen in vivo, dann nämlich, wenn das betr. Mittel nicht direkt hemmend auf die Bakterien wirkt, sondern auf dem Umwege über den Organismus. Dann könnte durch die schwächeren Konzentrationen die wachstumshemmende Kraft des Organismus angeregt, durch die stärkeren aber geschädigt werden. Wird jedoch ein solches Verhalten bei Versuchen in vitro nur gelegentlich beobachtet, dann liegt sicher ein technischer Fehler vor, wie z. B. Verwendung verschieden dicker Kapillaren oder anderes, denn wie wir beobachteten wuchsen die Bakterien nur bei einer nicht zu geringen Stärke der Kapillaren gut zu Kolonien aus. Eine solche Substanz galt jedenfalls als unwirksam und wurde von den weiteren Versuchen ausgeschaltet.

Versuche mit Streptokokken.

Die Streptokokkenversuche hatten folgendes Ergebnis: Ein unsicheres und widerspruchsvolles Verhalten im eben geschilderten Sinne zeigte sich bei den Substanzen α-Isochinin; o-p-Dinitrobenzolhydrazolutidin; 2-(hydrazobenzol)-4-(p-dimethylaminostyryl)-7-(p-dimethylaminobenzyliden)-aminochinolin; Harmin und 4-piperidyl-3-aminolutidin-hydrochlorid. Das Tanninheliotrop hatte zwar bei dem Stamm 1037 eine einwandfreie Wachstumshemmung gezeigt, bei dem Stamm Kauffmann jedoch waren große Kolonien — wenn auch der Zahl nach gehemmt — gewachsen. Es wurde deshalb aus den weiteren Prüfungen mit Streptokokken ausgeschaltet.

Die Substanzen Safranin, Indaminblau und 3,6-Diaminoakridin hatten beide Streptokokkenstämme im Wachstum so weit gehemmt, daß zumindest bei Anwendung der Konzentration 1:1000 die Streptokokken aus den Blutfäden verschwunden waren, während durch die Substanzen Aethylapochinin, p-Nitrilbenzolhydrazolutidin und 6-Isoamyloxy-4-isoamylaminochinolin das Wachstum des Streptokokkus 1037 vollständig gehemmt, der Stamm Kauffmann aber nur deutlich, wenn auch nicht so stark im Wachstum gehemmt wurde, daß die Blutfäden steril blieben. Immerhin zeigten sie auch bei diesem Stamm gleichmäßig ansteigende Hemmung des Bakterienwachstums.[1])

Zur Sicherung dieser zum Teil etwas ungleichmäßigen Resultate wurde die Prüfung mit diesen 6 Stoffen noch einmal wiederholt; und zwar wurde Streptokokkus 1037 in stärkerer Einsaat verwandt.

Die Ergebnisse der Wiederholungsversuche[2]) zeigen, daß auch die Substanzen Aethylapochinin; p-Nitrilbenzolhydrazolutidin und 6-Isoamyloxy-4-isoamylaminochinolin nicht die in den ersten Versuchen gezeigte sicher hemmende Wirkung ausüben. Bei den Kontrollversuchen war nun die Einsaat des Streptokokkus 1037 verzehnfacht worden, da sie in dem ersten Versuch zu gering erschienen war. Der Effekt ist, daß auch dieser Stamm von den genannten 3 Substanzen

---

1) Die ausführlichen tabellarisch geordneten Versuchsprotokolle befinden sich im hygienischen Institut und können auf Wunsch dort eingesehen werden. Hierfür Tabellen I und II.

2) Hierfür Tabellen III und IV.

im Wiederholungsversuch nicht genügend gehemmt werden konnte. Es ist im übrigen noch zu erwähnen, daß auch im Wiederholungsversuch Unterschiede im Bakterienwachstum in den 2 verschiedenen Bluten festgestellt werden mußten, derart daß — auch in den Kontrollfäden — das Wachstum im Blut 2 viel geringer war, wenn sich auch in den Ergebnissen diese Unterschiede nicht manifestieren.

Um nun die Wirkung der übrigbleibenden 3 Substanzen Safranin, Indaminblau und 3,6-Diaminoakridin weiter zu studieren, wurden diese Substanzen noch mit 3 weiteren, frisch herausgezüchteten Streptokokkenstämmen (Stamm I, V und VI) in den Versuch genommen. Bei diesem Versuch zeigen sich auch die Substanzen Safranin und Indaminblau als Versager.[3]) Nur noch das 3,6-Diaminoakridin hemmt das Wachstum aller geprüften Streptokokken so stark, daß diese vollständig aus den Fäden verschwinden, was in einem weiteren Wiederholungsversuch bestätigt werden konnte.[4])

Betrachtet man die vorstehenden Resultate im Zusammenhang, so zeigt es sich, wie vorsichtig man mit der Beurteilung der Versuchsergebnisse, vor allem wie zurückhaltend man in der Wertung der Erfolge sein muß. Die Untersuchungen zeigten auch, wie groß die Rolle der Virulenz der zu den Versuchen herangezogenen Bakterienstämme für die Resultate ist, denn man konnte sehen, wie ungleichmäßig sich verschiedene Stämme der gleichen Bakterienart den zu prüfenden Substanzen gegenüber verhielten. Als Erklärung für dieses uneinheitliche Verhalten ist wohl anzunehmen, daß die Virulenz der Streptokokken im Laufe der Zeit abnimmt, und daß dadurch die Stämme auch für chemische Einflüsse erheblich empfindlicher werden. Die älteren Stämme 1037 und Kauffmann leisteten so auch den schwächeren chemischen Einflüssen keinen so großen Widerstand wie die zu den weiteren Versuchen herangezogenen Stämme I, V und VI, die aus Untersuchungsmaterial frisch herausgezüchtet waren. Zusammenfassend muß man jedenfalls sagen, daß nur das 3,6-Diaminoakridin im Blut nach Wright Streptokokken gegenüber in den verwendeten Konzentrationen eine zuverlässig hemmende Wirkung entfaltete.

---

3) Hierfür Tabelle V.

4) Hierfür Tabelle VI, s. Fußnote auf Seite 14.

Versuche mit Pneumokokken.

Nach der gleichen Methode wurden die Pneumokokken in ihrem Verhalten den oben genannten 12 Substanzen gegenüber im Wright'schen Kapillàrverfahren geprüft. Zunächst wurden die Untersuchungen mit 2 alten Sammlungsstämmen und zwar Pneumokokken vom Typ I und IV vorgenommen. Diese Stämme wurden mit allen 12 Substanzen angesetzt.

(Der Stamm Pneumokokkus Typ I wuchs nur mäßig gut im Blut; auch die Einsaatkontrollen zeigten nur wenige und nicht sehr dichte Kolonien.)

Hemmende Wirkungen zeigten hier bei Pneumokokkus Typ I die Substanzen: Safranin, Tanninheliotrop, 3,6-Diaminoakridin, α-Isochinin, Aethylapochinin und 2-(hydrazobenzol)-4-(p-dimethylaminostyryl)-7-(dimethylaminobenzyliden)-aminochinolin, bei Pneumokokkus Typ IV nur das 3,6-Diaminoakridin und das Aethylapochinin.[5]) Um festzustellen, ob die besseren Resultate mit Pneumokokkus Typ I auf einem anderen Verhalten desselben gegenüber den Chemikalien beruhten, oder ob der Unterschied im Wachstum auf dem allgemein, auch in den Kontrollen festzustellenden, schlechteren Wachstum des Stammes I basiert, wurden alle diese 6 auf den Pneumokokkus I wirkenden Substanzen und die 2 auf den Pneumokokkus IV wirkenden Chemikalien in einem Wiederholungsversuch geprüft.[6]) Gleichzeitig wurden diese 6 auf den Pneumokokkus I wirkenden Körper noch mit zwei neuen frisch herausgezüchteten Pneumokokkenstämmen (5 und 6) geprüft.[7]) Sowohl bei diesem Wiederholungsversuch mit den Pneumokokken I und IV, wie auch bei dem Kontrollversuch mit den frischen Pneumokokkenstämmen 5 und 6 zeigte sich nur das 3,6-Diaminoakridin hemmend wirksam. Der letztgenannte Versuch wird zur Sicherheit noch einmal mit dem gleichen Ergebnis wiederholt.[8])

Bei den Versuchen mit den Pneumokokken zeigt es sich, daß wie bei den Streptokokken Versuche mit frisch herausgezüchteten Stämmen weniger positive Resultate ergeben, als es bei Benutzung der älteren Sammlungsstämme

5) Hierfür Tabellen VII und VIII.

6) Hierfür Tabellen IX und X.

7) Hierfür Tabellen XI und XII.

8) Hierfür Tabelle XIII. Für alle diese s. auch Fußnote zu S. 14.

der Fall ist. Auch dies spricht für die große Rolle, welche die Virulenz der Stämme für ihr Verhalten gegenüber chemischer Beeinflussung spielt. Wie aus den Versuchen mit den Pneumokokken hervorgeht, zeigt nur das 3,6 - Diaminoakridin hemmende Wirkung auf das Wachstum aller geprüften Pneumokokkenstämme im Blutmilieu nach Wright. Die Wirksamkeit dieser Substanz ließ sich teilweise sogar bis in Verdünnungen von 1 : 120 000 nachweisen.

Versuche mit Typhusbazillen.

In der gleichen Art, wie mit den Strepto- und Pneumokokken wurde das Verhalten von Typhusbazillen im Wrightschen Kapillarversuch gegenüber den oben verwandten Substanzen geprüft, wobei die Typhusstämme 939, II und VI verwandt wurden.

Es sei hier gleich bemerkt, daß auch hier wieder nur das 3,6 - Diaminoakridin eine so weitgehend hemmende Wirkung auf das Wachstum der Bazillen ausübte, daß man von einer ausreichenden Wirkung sprechen kann. [9])

Zur Sicherung der Resultate wurden die Versuche mit Typhusbazillen mit dem 3,6 - Diaminoakridin wiederholt, wobei sich das gleiche Resultat ergab. [10])

Die Typhusbazillen scheinen sich im Blut nach Wright viel schwerer von Chemikalien beeinflussen zu lassen als Strepto- und Pneumokokken. Die Resultate sind jedenfalls viel klarer negativ als bei den beiden anderen Bakterienarten, und die vielen leichteren Hemmungen fehlen. Auch das 3,6 - Diaminoakridin wirkte bei allen drei Typhusstämmen sicher nur in der Verdünnung 1 : 12 000 und im ersten Versuch mit Stamm 939 und Blut I auch bei dieser Konzentration nicht völlig, sondern nur teilweise hemmend. Es sei dahingestellt, welche Rolle die Unterschiede der Blute hierbei spielen, es dürfte jedoch gerade nach den genauen Versuchsergebnissen sicher sein, daß die bakterizide Kraft des Blutes an und für sich schon eine nicht unerhebliche, die Einwirkung chemischer Substanzen unterstützende Rolle spielen kann.

---

9) Hierfür Tabelle XIV.

10) Hierfür Tabelle XV, s. Fußnote auf Seite 14.

Versuche mit den Substanzen: Optochin, Eucupin, Trypaflavin und Rivanol.

Nachdem in den obigen Versuchen das Verhalten der 12 verschiedenen, in der praktischen Medizin nicht angewandten Substanzen gegenüber Strepto- und Pneumokokken und Typhusbazillen geprüft war, erschien es interessant, in der gleichen Weise Substanzen zu untersuchen, die in der Humanmedizin schon vielfach verwandt worden sind, und über deren Verhalten im Tier- und Reagenzglasversuch schon von verschiedenen Seiten berichtet wurde. In unsere Untersuchungen wurden Eucupin, Optochin, Rivanol und Trypaflavin einbezogen. Diese vier Körper wurden mit den in den vorigen Versuchen verwandten drei frischen Streptokokkenstämmen und den 2 frischen Pneumokokkenstämmen nach der Wrightschen Kapillarmethode geprüft. Wie vorher wurden die Versuche mit je 2 verschiedenen Bluten angestellt, und das besonders interessierende Optochin wurde in der basischen und salzsauern Form angewandt. [11])

Überraschenderweise versagten hier außer dem Trypaflavin alle Substanzen, auch das Optochin bei den Pneumokokken. Die hemmende Wirkung des Trypaflavin gegenüber Strepto- und Pneumokokken konnte in einem Wiederholungsversuch bestätigt werden. [12])

Das Optochin wurde in der salzsauren Form noch bei den in den ersten Pneumokokkenversuchen weniger virulent scheinenden älteren Pneumokokkenstämmen I und IV mit dem gleichen negativen Resultat angewandt. [13])

Ferner wurde es noch in erheblich höheren Konzentrationen (1 : 500 und 1 : 200 in der Lösung, d. h. 1 : 6000 resp. 1 : 2400 im Blutfaden) in der salzsauren und der basischen Form mit den Pneumokokkenstämmen 5 und 6 und einem frisch herausgezüchteten Pneumokokkenstamm (2793) geprüft. [14]) Auch in diesem letzten Versuch war nur das salzsaure Optochin in der stärksten Konzentration von 1 : 2400 im Blutfaden hemmend auf das Wachstum der Pneumokokken wirksam.

---

11) Hierfür Tabelle XVI.
12) Hierfür Tabelle XVII.
13) Hierfür Tabelle XVIII.
14) Hierfür Tabelle XIX, s. Fußnote auf Seite 14.

Wie alle diese Versuche zeigen, konnte im Kapillarversuch nach Wright das Optochin und das Trypaflavin in den üblichen Konzentrationen das Wachstum der Pneumo- und Streptokokken nicht so weit hemmen, daß man von einer ausreichenden desinfizierenden Wirkung sprechen kann. Das Optochin versagt sogar bei wenig virulenten Pneumokokkenstämmen in der immerhin recht starken Konzentration von 1 : 12 000 im Blutfaden, denn die gelegentlich auftretende teilweise Hemmung ist zu wenig beweisend für einen Erfolg, zumal dem vollkommene Versager gegenüber stehen. Das Optochin wirkte in der salzsauren Form nur in Konzentrationen von 1 : 2400 im Blutfaden. In Kochsalzlösung dagegen tötet es Pneumokokken nach Versuchen von Wright in einer Verdünnung von ca. 1 : 500 000 ab, in menschlichem Serum wirkt es auch noch in Verdünnungen von 1 : 400 000 bakterizid auf Pneumokokken.

Etwas besser als das Optochin scheint das Trypaflavin zu wirken, das die Pneumokokken bei der Konzentration von 1 : 12 000 im Blutfaden auch bei virulenten Stämmen vollständig und in der Konzentration von 1 : 60 000 im Blutfaden wenigstens teilweise aus der Kultur verschwinden ließ. Bei Streptokokken wirkte es nicht so weitgehend, immerhin verschwanden auch hierbei unter der Anwendung der Konzentration von 1 : 12 000 die Bakterien fast ganz aus dem Blutfaden. Wie sich diese Ergebnisse in die anderen Resultate der Versuche einfügen, sei im folgenden untersucht.

Diskussion.

Die in der Problemstellung aufgeworfene Frage, ob die Substanzen, die in den Arbeiten von Hesse und Meißner sich als wirksam gegenüber Tuberkelbazillen zeigten, auch auf Strepto- und Pneumokokken sowie Typhusbazillen einen hemmenden Einfluß in der Blutkultur nach Wright ausüben, ist dahin zu beantworten, daß das nur für Körper aus der Gruppe der Akridine der Fall ist.

In den ersten Versuchen schien es so, als ob auch einige andere Substanzen, wie z. B. das Safranin und das Indaminblau aus der Gruppe der Azine, das Aethylapochinin und das 6 - Isoamyloxy - 4 - isoamylaminochinolin von den Chinolinen und der Pyridinkörper p - Nitrilbenzolhydrazolutidin auf

das Wachstum der Streptokokken und das Safranin und Tanninheliotrop (Azingruppe) und die drei Substanzen 2 - (hydrazobenzol-4 - (p-dimethylaminostyryl)-7 - (p-dimethylaminobenzyliden) - aminochinolin (Chinolingruppe) und α -Isochinin und Aethylapochinin (Alkaloidgruppe) auf die Pneumokokken einen deutlich hemmenden Einfluß ausüben könnten.

Dieser Eindruck entstand jedoch nur dadurch, daß zu diesen Versuchen ältere Bakterienstämme verwandt wurden, die zum Teil aus der Sammlung des Instituts stammten und also anscheinend in ihrer Virulenz geschädigt waren, zum Teil sich von vornherein durch ein schwächeres Wachstum auszeichneten, die also insgesamt vulnerabler zu sein schienen, als man das bei hoch pathogenen Bakterien sonst annehmen kann. Nachdem man frische Stämme von unbeeinträchtigter Virulenz, resp. eine stärkere Einsaat der älteren Bakterienstämme für die Wrightschen Kapillaren verwandte, änderte sich das Bild sofort, und es blieb schließlich nur die eine Akridinsubstanz als wirksam übrig. Immerhin kann man auch aus den leichteren Graden der Hemmung sehen, welche Substanzen noch am ehesten irgend eine Wirkung auf die Bakterien üben, und es ist interessant festzustellen, daß auf die Pneumokokken von sechs zum Schluß im Wiederholungsversuch geprüften Substanzen drei aus der Gruppe der Chinoline wirkten.

Prinzipiell ist zu den Ergebnissen der Versuche noch nachträglich zu sagen, daß eine gewisse hemmende Wirkung auf das Wachstum der Bakterien von vielen untersuchten Substanzen ausgeübt wurde. Diese Wirkung genügte jedoch nicht, um die Bakterien aus den Blutfäden verschwinden zu lassen, und die Hemmung war zudem sehr wechselnd und unsicher. Die positiven Ergebnisse mit dem 3,6 - Diaminoakridin dürften als sicher anzusehen sein, denn es wurde, wie bei der Technik beschrieben, so vorgegangen, daß mit je 2 verschiedenen Bluten in je 2 verschiedenen Versuchen gearbeitet wurde. Es wurde also in 4 verschiedenen Bluten mit 2 verschiedenen Kulturen des betr. Bakterienstammes gearbeitet, ohne daß die Ergebnisse voneinander differierten, was doch wohl als weitgehende Sicherung angesprochen werden kann.

Interessant ist an den Versuchsergebnissen, daß zwar das Reagieren der Streptokokken, Pneumokokken und Ty-

phusbazillen im Endeffekt, was die Wirkung der geprüften Substanzen betrifft, gleich war, daß aber die Tuberkelbazillen in den korrespondierenden Versuchen von Hesse und Meißner ganz anders reagiert hatten. Das ist ein Beweis dafür, daß die positive Reaktion in Versuchen mit einer Bakterienart durchaus keine Rückschlüsse auf das Verhalten anderer Bakterienstämme erlaubt, daß man vielmehr jede Bakterienart gesondert prüfen muß, wenn man schließlich einmal — übertragen aus den Laboratoriumsversuchen in die Heilpraxis — zu „pantherapeutisch" zu nennenden Substanzen kommen will. Die Notwendigkeit einer solchen ins einzelne gehenden Prüfung ist noch besser daraus zu sehen, daß bei den wenig virulenten Streptokokken und Pneumokokken in den ersten zwei Versuchen und ihren Wiederholungen die Substanzen Safranin, 3,6 - Diaminoakridin und Aethylapochinin auf beide Bakterienarten gleich wirkten, weiterhin aber auf die Streptokokken die Substanzen Indaminblau, p - Nitrilbenzolhydrazolutidin und 6 - Isoamyloxy - 4 - isoamylaminochinolin, auf die Pneumokokken aber die Substanzen Tanninheliotrop, α - Isochinin und 2 - (hydrazobenzol) - 4 - (p - dimethylaminostyryl) - 7 - (p - dimethylaminobenzyliden) - aminochinolin, ein Hinweis darauf, daß die Tendenz zur Wirkung an verschiedene Substanzen, wenn auch wieder zum Teil aus den gleichen Gruppen gebunden war.

Bei den Typhusstämmen versagten wieder außer dem 3,6 - Diaminoakridin alle anderen. Hier sind wohl ganz andere Anforderungen an die Natur eines Desinfiziens zu stellen, als bei Strepto- und Pneumokokken, wenn man sich nicht damit zufrieden geben will, hier weiter nach stärker wirksamen Körpern auf dem Gebiet der Akridine zu suchen wohin ja die positive Wirkung von 3,6 - Diaminoakridin weist. Hier ist im übrigen daran zu erinnern, daß vor einer Reihe von Jahren schon Eisenberg in einer Mitteilung über halbspezifische Desinfektionswirkungen auf die größere Widerstandsfähigkeit von gramnegativen Bakterien gegenüber chemischen Reizen hingewiesen hat. Die hier mitgeteilten Resultate bringen eine Bestätigung der erwähnten Befunde von Eisenberg, wobei heute die Frage, worauf diese größere Widerstandsfähigkeit der gramnegativen Mikroorganismen beruht, unerörtert bleiben mag.

Nach dieser abschließenden Betrachtung der Versuche drängt sich natürlich sofort eine weitere Frage auf, die ja auch in den vorhergehenden Abschnitten angedeutet wurde, dahingehend, wie weit die Wrightsche Kapillarmethode zur Prüfung der Einwirkung von körperfremden Substanzen auf das Wachstum von Bakterien im Blut als eine Methode „in vitro" betrachtet werden muß, und in welchem Grade man doch eine Annäherung an die Verhältnisse im Organismus annehmen kann.

Morgenroth hat in einer seiner grundlegenden Arbeiten zur Chemotherapie gesagt:

> „Die absolute Höhe der Desinfektionswirkung im Reagenzglas erscheint nicht mehr als allein maßgebender Hauptfaktor für die Wertbemessung chemotherapeutischer Antiseptica, die Reaktion mit Körperflüssigkeit und Gewebe nicht mehr als Hindernis, sondern vielmehr unter Umständen als eine der Grundbedingungen der Desinfektionswirkung."

Alle bisherigen Erfahrungen haben die Richtigkeit dieses Ausspruches von Morgenroth in vollem Umfange bestätigt. Es ist für den Effekt gleichgültig, ob man die Worte der „Reaktion mit Körperflüssigkeit und Geweben" so auffaßt, als ob darunter einmal zu verstehen sei, daß bei dieser Reaktion die zugeführten Substanzen verändert und zur Einwirkung auf Mikroorganismen geeignet gemacht werden, oder als ob ein andermal anzunehmen sei, daß durch den Einfluß der körperfremden Substanzen die Körperflüssigkeit und die Gewebe zur Produktion von wirksamen Hemmungsstoffen gegen das Wachstum von Bakterien veranlaßt werden. Wichtig ist, daß diese Wirkung aufeinander das Entscheidende ist. Der Schritt vom Versuch im Reagenzglas in wässriger Lösung zum Arbeiten im Serum hat wesentliche Unterschiede in den Ergebnissen gebracht. Die Wrightsche Methode erscheint mir geeignet, den Schritt vom Serum zum Arbeiten im Milieu des Gesamtblutes zu ermöglichen und bei entsprechender Verbreiterung der Erfahrungsbasis zu zeigen, wie groß die Unterschiede in den Ergebnissen hierbei sein werden. Es bliebe dann als letzter Schritt der vom Gesamtblut zum Kontakt mit den Geweben zuerst in Form der Gewebskultur und danach mit den Geweben im lebenden Organismus, und damit ein Hinweis

darauf, welche Rolle in der Abwehr bakterieller Angriffe noch den Geweben zukommt. Vielleicht ist dieser Schritt gar nicht mehr so groß, so daß man im Wrightschen Versuch eine gute Prüfungsmethode besitzt, die dann sichere Schlüsse auf die Wirkung im Körper zuließe. Es scheint mir weiterhin möglich, gerade durch die Heranziehung des Wrightschen Versuches zu solchen Prüfungen der Einwirkung von verschiedenen Substanzen auf Bakterien im Blut mehr zu Versuchen mit menschlichem Blut direkt zu kommen, als das bisher der Fall war, und damit ließe sich vielleicht ein weiterer Unsicherheitsfaktor aus den Prüfungen ausschalten. Sicheres hierzu ließe sich natürlich erst sagen, wenn man durch vielfache Anwendung der Wrightschen Methode ein besseres Urteil über deren Leistungsfähigkeit bekommen hat, als das heute der Fall ist. Ich verstehe darunter vor allem systematische Vergleichung bekannter Wirkungen im Organismus mit Wirkungen im Wrightschen Kapillarblutfaden, also etwa unter Verwendung sicher wirksamer Seren usw.

Der Versuch eines solchen Schrittes, der dabei auf dem Gebiet der Chemotherapie bleibt, sind die Prüfungen der Einwirkung der aus der Humanmedizin genügend bekannten Stoffe, Optochin, Eucupin, Trypaflavin und Rivanol auf Strepto- und Pneumokokken im Wrightschen Blutfaden, wie sie in den obigen Tabellen XVI—XIX im Vergleich mit den Tierversuchen niedergelegt sind. Diese Ergebnisse überraschen zunächst in mehrfacher Hinsicht. Wenn man heute auch sagen kann, daß die genannten vier Körper bei Pneumokokken- und Streptokokkenerkrankungen des menschlichen Organismus nicht die keimtötende Wirkung entfalten, die man bei ihrer Einführung von ihnen erwartet hatte, so scheint es doch ebenso sicher, daß sie im Tierversuch an der Maus bei zweckmäßiger Versuchsanordnung sicher wirken. Morgenroth und seine Mitarbeiter haben dieses Versuchsgebiet eingehend bearbeitet und sind im großen und ganzen zu folgenden Ergebnissen gekommen: Infiziert man eine Maus mit Pneumokokken, indem man ihr etwa 0,5 ccm einer 24 Stunden alten Pneumokokkenkultur in Ascitesbouillon in Verdünnungen von 1 : 1000 bis 1 : 1000 000 intraperitoneal einverleibt, so stirbt das Tier spätestens nach 2 Tagen, meistens schon nach 12—24 Stunden. Gibt man nun einer so infizierten Maus unmittelbar nach der Infek-

tion subkutan eine geeignete Lösung von Optochin, so bleibt das Tier am Leben, die eingebrachten Pneumokokken vermehren sich also nicht soweit, daß sie den Tod herbeiführen. In ähnlicher Weise wirkten Trypaflavin, Rivanol und Eucupin — übrigens auch das 3,6-Diaminoakridin — bei Streptokokkeninfektion im Tierversuch, dann nämlich, wenn man ein Versuchstier durch subkutane Injektion einer Streptokokkenkultur infizierte und unmittelbar danach in den gleichen Stichkanal die zu prüfende Lösung von Eucupin, Rivanol oder Trypaflavin injizierte.

Die Diskrepanz zwischen der Wirkung dieser Stoffe im Tierversuch nach Morgenroth einerseits und ihrem relativen therapeutischen Versagen bei entsprechenden Erkrankungen des Menschen andererseits zu erklären, liegt mir hier nicht ob. Wichtig ist, daß auch im Gegensatz zu den erwähnten Erfolgen mit Optochin, Eucupin, Rivanol und Trypaflavin im Tierversuch nach Morgenroth diese Substanzen bis auf das Trypaflavin im Wrightschen Kapillarversuch mit Meerschweinchenblut keine so weitgehende Hemmung auf die Entwicklung der Bakterien ausüben konnten, daß es zu einer Sterilisierung der Blutfäden kam. Der Ausfall des Wright'schen Kapillarversuches zeigt also trotz der Anwendung eines Tierblutes eine weitgehende Aehnlichkeit mit dem relativ negativen therapeutischen Resultat in der Humanmedizin.

Nun ist aber die oben aufgestellte Entwicklungsreihe: Wright'scher Versuch — Tierversuch — Therapie beim Menschen — bei Mensch und Tier nicht konsequent parallel durchgeführt worden, insofern, als man die Anwendung der zu prüfenden Chemikalien nicht in paralleler Weise vornahm. Die genannten vier Chemotherapeutica versagen in der Humanmedizin nämlich nur dort, wo man von ihnen eine Therapia magna sterilisans durch intravenöse Einverleibung erwartet. Bei der Behandlung lokaler Infektionen, wie z. B. Phlegmonen usw. entfalten sie unbestritten desinfizierende Wirkungen. Im Mäuseversuch dagegen wirken sie in Form einer Therapia magna sterilisans, allerdings nur unter besonders günstig gestalteten Bedingungen, wie gleichzeitige Applikation zusammen mit der Infektion, was man ja bei der Erkrankung des Menschen nie erreichen kann. Im Wrightschen Versuch wiederum versagten sie weitgehend bei

gleichzeitiger Applikation zusammen mit der Bakterieneinsaat. Eine befriedigende Erklärung hierfür dürfte bei dem heutigen Stande dieser Versuchform noch nicht möglich sein; man könnte sich allerdings folgende vorstellen:

Im Wright'schen Versuch wird die chemische Substanz einer massenhaften Infektion mit einer Bakterienreinkultur gegenübergestellt, der sie in diesem Umfange im Blut nicht gewachsen ist. Genau so liegt die Situation bei den Versuchen der Therapia magna sterilisans durch intravenöse Einverleibung bei bakteriellen Allgemeininfektionen in der Humanmedizin. Man kommt ja hierbei erst dann zur Anwendung des Chemotherapeuticums, wenn die Allgemeininfektion manifeste Erscheinungen, wie Fieber usw. macht, und wenn also wohl schon eine ziemlich weitgehende Durchsetzung des Blutes und der Schlupfwinkel in den Geweben mit den Bakterien vorliegt. Die zur Anwendung herangezogene Substanz kann kaum jemals in ausreichender Dosis verabreicht werden und wird wohl im Blut bald so weit verändert resp. abgebaut, daß sie nicht genügend lange auf die Infektionserreger wirken kann. Anders liegt die Situation im oben geschilderten Tierversuch nach Morgenroth und bei der lokalen Behandlung lokaler bakterieller Infektionen beim Menschen. In beiden Fällen ist anzunehmen, daß die Infektionserreger vor allem in den Gewebslücken und nur in relativ geringer Zahl in der Blutbahn zu finden sind. Bei der lokalen Infektion beim Menschen nun kann das Gewebsdesinficiens in ausreichender Konzentration unter Umständen stundenlang auf die Bakterien, und zwar noch nicht im Gesamtblut, sondern in der Umgebung der Lymphspalten einwirken. In den oben beschriebenen Tierversuchen aber muß man annehmen, daß bei der einen Form das sofort in großem Übergewicht nachgespritzte Chemotherapeuticum noch subkutan, also ebenfalls im lymph- und nicht blutdurchströmten Unterhautgewebe, den größten Teil der Infektionserreger vor deren Ausbreitung bis zur Allgemeininfektion abtötet; danach wird der größte Teil der chemischen Substanz ins Blutplasma aufgenommen, was Morgenroth und seine Mitarbeiter wenigstens für das Optochin nachgewiesen haben, und die allmählich dorthin einwandernden überlebenden Infektionserreger treffen dort einzeln auf eine genügende Konzentration des Desinfiziens, so daß ihre wei-

tere Vermehrung unterbunden wird. Bei der zweiten Form, der intraperitonealen Infektion mit Pneumokokken, geht ebenfalls das sofort subkutan nachgespritzte Chemotherapeuticum in das Blutplasma und die Peritonealflüssigkeit über, und die aus der Peritonealhöhle einwandernden Pneumokokken können ebenfalls gleich abgetötet werden, bevor sie sich vermehren. Daß die Frage der Dosierung eine nicht unerhebliche Rolle spielt, ist nicht nur theoretisch sofort einleuchtend, sondern auch praktisch erwiesen durch den in der Tabelle XIX dargestellten Versuch. Dort konnte nämlich das Optochin in der Konzentration von 1 : 2500 im Blutfaden das Verschwinden der Pneumokokken, also absolut hemmenden Einfluß, erzielen; dies also in einer wohl im Mäuseorganismus, im menschlichen Körper aber niemals zu erreichenden Konzentrierung.

Nach diesen Überlegungen wäre also der Wright'sche Versuch der manifesten bakteriellen Allgemeininfektion des Menschen viel mehr parallel zu setzen, als das Morgenrothsche Mäuseexperiment. Dazu wäre weiterhin noch zu bedenken, daß man bei der Prüfung einer Substanz im Wright'schen Versuch durchaus in der Lage ist, menschliches Blut anzuwenden und so eine noch weitergehende Annäherung der Verhältnisse aneinander zu schaffen. Vor allem läßt sich auch, wie die Versuche zeigen, eine exakte Dosen- resp. Konzentrationsprüfung von Chemotherapeuticis damit durchführen.

Zusammenfassung.

1. Von 12 verschiedenen Substanzen, die im Wright'schen Kapillarversuch die Entwickelung von Tuberkelbazillen gut gehemmt hatten, wirkte nur eine — das 3,6-Diaminoakridin — in der Konzentration von 1 : 12 000 im Blutfaden zuverlässig hemmend auf das Wachstum von Pneumo- und Streptokokken, sowie von Typhusbazillen.
2. Die in der Humanmedizin vielfach geprüften Chemotherapeutica Eucupin, Optochin, Rivanol und Trypaflavin sind bis auf Trypaflavin nicht imstande im Wrightschen Kapillarversuch mit Meerschweinchenblut das Wachstum von Pneumo- und Streptokokken wesentlich zu hemmen.

3. Nach dem Ausfall der Versuche ist zu fordern, daß die Wirkung einer chemischen Substanz gegenüber den verschiedenen Bakterienarten gesondert geprüft werden muß, da die hemmende Wirkung nicht gegen alle Bakterienarten gleichmäßig erfolgt.
4. Der Zustand des Blutes spielt eine nicht unerhebliche Rolle für die hemmende Wirkung einer chemischen Substanz im Blut gegenüber Mikroorganismen, wie der verschiedene Ausfall der Versuche mit verschiedenen Blut auch der gleichen Tiergattung zeigt.
5. Es wird der Versuch gemacht, eine Erklärung für die verschiedenen Wirkungen eines Teiles der geprüften Stoffe im Blutfaden, an der Maus und am Menschen zu geben.

Abschließend möchte ich nicht versäumen, Frl. Priv.-Doz. Dr. Meißner meinen aufrichtigsten Dank für die Anregung zu diesen Versuchen, und die mir bei deren Durchführung und der Abfassung der Arbeit gewährte Unterstützung auszusprechen.

Literatur

1. Bannerman, R. G.: Brit. J. exp. Pathol. 1927. Vol. 8. p. 209.
2. Berndt, H.: Zbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1931. Bd. 121. p. 342.
3. Eisenberg, Ph.: Zbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1913. Bd. 71. p. 420.
4. Fry, R. M.: Brit. J. exp. Pathol. 1926. Vol. 7. p. 174.
5. Geller, Fr. Chr.: Med. Kl. 1928. p. 85.
6. ders. Arch. f. Gyn. 1928. Bd. 34. p. 141.
7. Gutmann, L.: Zschr. f. Immun. Forschg. 1912. Bd. 15. p. 625.
8. Hesse, Meißner u. Quast: Arch. f. exp. Pathol. 1928. Bd. 135. p. 82.
9. Hesse, E. u. Meißner, G.: Arch. exp. Pathol. 1930. Bd. 147. p. 339.
10. dies. ebenda 1931. Bd. 159. p. 676 und 687.
11. Meißner, G.: Zbl. f. Bakt. Abt. I Orig. 1928. Bd. 106. p. 210.
12. Morgenroth: D. m. W. 1919. p. 505. und Therap. Mon.-Hefte 1912. Febr.-Heft.
13. Morgenroth u. Kaufmann: Zschr. f. Immunforschung 1912. Bd. 15. p. 610.
14. dies. ebenda 1913. Bd. 18. p. 145.
15. Morgenroth u. Levy: Berl. kli. Wo. 1911. p. 1560 und 1979.
16. Morgenroth: Kli. Wo. 1922. p. 353.
17. Morgenroth u. Schnitzer im Handbuch d. exp. Chemo- u. Ser. Ther. von Wolff-Eisner, 2. Aufl. p. 103.

18. Morgenroth, Schnitzer u. Rosenberg: D. m. W. 1921. p. 1315.

19. Neufeld u. Engwer: Berl. kli. Wo. 1912. p. 2381.

20. Neufeld u. Schiemann: Zbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. 1913. Bd. 57. Beiheft p. 183.

21. Neufeld, Schiemann u. Baumgarten: D. m. W. 1920. p. 1013.

22. Pfalz, G. J.: Arch. f. Gyn. 1928. Bd. 134. p. 73.

23. ders. ebenda 1930. Bd. 143. p. 376; D. m. W. 1928. p. 1121; Kli. Wo. 1930. p. 1343; Kli. Wo. 1931. p. 306.

24. Pfeiffer, R.: Zschr. f. Hyg. 1894. Bd. 16. p. 267.

25. Issaeff, ebenda p. 287.

26. Philipp, E.: M. m. W. 1923. p. 493.

27. Prausnitz, C. u. Meißner, G.: Zbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1925. Bd. 94. p. 376.

28. Prausnitz, C. u. Meißner, I.: ebenda 1926. Bd. 97. Beiheft p. 171.

29. Ruge, C.: Med. Kl. 1923. p. 200.

30. Schiemann u. Ishiwara: Zschr. f. Hyg. 1914. Bd. 77. p. 49.

31. Schnitzer u. Rosenberg: D. m. W. 1924. p. 133.

32. Scholtz, H. G.: Kli. Wo. 1931. p. 1569.

33. Schottmüller, H. u. Barfurth, W.: Beitr. z. Kl. d. Inf.-Krnkh. 1914. Bd. 3 p. 291.

34. Sonak, M.: Zbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1930. Bd. 115. p. 173.

35. Todd, E. W.: Brit. J. exp. Bakt. 1927. Bd. 8 p. 289.

36. Wright, A. E.: Ann. Inst. Pasteur 1923. Bd. 37. p. 107.

37. ders. The Lancet 1912, vom 14. und 21. 12.

.....